Product sheet

Células MRC-5 | 300395

Informações gerais

Description	As células MRC-5, uma linhagem de fibroblastos pulmonares humanos derivada do tecido pulmonar de um feto do sexo masculino de 14 semanas de idade em 1966, são amplamente utilizadas na produção de certas vacinas, incluindo as contra hepatite A, poliomielite, raiva e outras. A suscetibilidade a vários vírus humanos, notadamente o poliovírus humano tipo 1, o vírus do herpes simplex e o vírus da estomatite vesicular, ressalta o papel das células MRC-5 na descoberta de antivirais, vacinas virais, segurança das vacinas e replicação viral. As linhas celulares MRC-5 e WI-38 ainda são utilizadas atualmente na produção de vacinas contra varicela, rubéola, hepatite A e uma versão da vacina contra a raiva. Recentemente, as células MRC-5 foram modificadas para expressar o receptor ACE2 e têm sido fundamentais na pesquisa sobre a SARS. As células humanas MRC-5 modificadas para expressar o ACE2 permitem que os cientistas estudem como o vírus SARS-CoV entra e se replica nas células-hospedeiras. Esse trabalho tem sido vital para compreender o comportamento do vírus e desenvolver agentes antivirais e tratamentos direcionados. A utilidade da linhagem celular fetal MRC5 vai além da produção de vacinas, abrangendo papéis potenciais na pesquisa do câncer, com a linhagem sendo empregada em estudos que exploram o microambiente tumoral e as interações entre células cancerosas, devido à sua capacidade de se diferenciar em múltiplos tipos celulares, incluindo osteócitos e condrócitos. Isso levou a especulações sobre sua semelhança com as células-tronco mesenquimais (MSCs), dada sua morfologia semelhante à dos fibroblastos e a manutenção de um cariótipo diplóide normal durante a expansão in vitro prolongada.
Organism	Humano
Tissue	Pulmão
Applications	Produção de vacinas
Synonyms	MRC5, MRC 5, MRCV, MRC-V, linhagem celular 5 do Conselho de Pesquisa Médica

Características

Age	Feto
Gender	Masculino
Cell type	Fibroblasto
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

Células MRC-5 | 300395

Citation	MRC-5 (número de catálogo da Cytion 300395)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0440

Dados biomoleculares

Virus susceptibility	Não suscetível à infecção pelo coronavírus 2 da SARS (SARS-CoV-2) (COVID-19)
Karyotype	A MRC5 é uma linhagem celular diplóide com um número modal de cromossomos igual a 46.

Manuseio

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)
Supplements	Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células MRC-5 | 300395

Sterility	A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.